

Дерябин Н.Г.

Гепатит С: современное состояние и перспективы

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Министерства здравоохранения РФ

Среди вирусных гепатитов с парентеральным способом передачи гепатит С представляет собой наиболее значимую проблему здравоохранения. Прежде всего, это связано с глобальным распространением инфекции, высоким уровнем заболеваемости, склонностью к формированию хронических форм инфекции, приводящих к циррозу, первичному раку печени; вирус гепатита С способен поражать многие органы и ткани человека. В то же время, в практическом здравоохранении до сих пор нет вакцины против этой инфекции, а применяемые сегодня лечебные препараты всё ещё малоэффективны, дорогостоящи и не являются безвредными для здоровья человека. Сохраняется острая необходимость в осуществлении мониторинга инфекции, в разработке новых методов диагностики, лечения и профилактики гепатита С. В настоящем обзоре представлены данные по характеристике возбудителя гепатита С, представлены особенности распространения вируса и его генотипов в мире, в том числе, – в Российской Федерации, результаты клинических исследований, данные последних лет по эпидемиологии инфекции. Приведены результаты недавних исследований по экспериментальному моделированию инфекции, вызванной вирусом гепатита С *in vivo* и *in vitro*, по созданию коллекции штаммов вируса гепатита С, пригодной для разработки новых диагностических, лечебных и профилактических препаратов. Проведён анализ данных о перспективе разработки и внедрения вакцины против гепатита С, а также новых средств лечения инфекции.

Ключевые слова: *вирус, гепатит С, генотип, РНК, модель, коллекция, штаммы, лечение, диагностика, профилактика.*

Deryabin P.G.

Hepatitis C: current state and prospects

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Russian Ministry of public health

Hepatitis C is the most significant public health problem among viral hepatitis with parenteral transmission. First of all, this is due to the global spread of the infection, high levels of morbidity, the ability to form chronic infection, leading to cirrhosis, to primary liver cancer. An addition, hepatitis C virus is able to infect and cause pathological changes in different kind of human organs. At the same time, there is still no vaccine against hepatitis C, and the medicines currently used, still little effective, expensive and not to be harmless to the person. There remains an urgent need for the implementation of the monitoring, development of new methods of diagnosis, treatment and prevention of hepatitis C. Given review presents data on hepatitis C virus characteristics, especially the spread of the virus and its genotypes in the world, including in the Russian Federation, results of clinical manifestations study, data on the epidemiology of the infection in recent years. The results of recent *in vivo* and *in vitro* studies on experimental modeling of hepatitis C virus infection which are led to create a collection of hepatitis C virus strains suitable for the development of new diagnostic, therapeutic and preventive medicines. Analysis of published data concerning development of vaccines and hepatitis C treatments is carried out.

Key words: *virus, hepatitis C, genotype, RNA, model, collection, strains, treatment, diagnostics, prevention.*

Вирусные гепатиты являются причиной смерти более, чем одного миллиона человек в год. Европейская Ассоциация по изучению печени (EASL – European Association for study of the liver) призывает различные структуры, входящие в состав ООН, принять меры для борьбы с вирусными гепатитами, потенциально смертельными инфекциями, которыми на Земном Шаре заражено 500 млн. человек. Ещё более тревожным является тот факт, что большинство людей узнают о том, что они инфицированы, лишь при появлении первых признаков инфекции, которыми могут быть развитие рака печени или печёночной недостаточности. Именно поэтому академик Д.К. Львов называет гепатит С (ГС) «ласковым убийцей» [12]. К сожалению, из основных направлений перспективного развития, сформулированных в Декларации Тысячелетия, главный акцент ставится исключительно на проблемы «ВИЧ-инфекция», «Туберкулез» и «Малярия». Профессор Mark Thursz, генеральный секретарь EASL, считает, что вирусные гепатиты должны быть признаны серьезной угрозой человечеству, и необходимо принять неотложные меры для защиты от заражения ещё неинфицированных людей, а инфицированным должно быть обеспечено доступное эффективное лечение. Игнорирование проблемы вирусных гепатитов является дискриминационным, поэтому Объединенная Программа Национального Развития (UNDP – United Nations Development Programme) под эгидой ООН должна придать проблеме «Вирусные гепатиты» тот же приоритет, что и проблемам «ВИЧ-инфекция», «Туберкулез» и «Малярия». И в этой связи, руководство EASL считает важным, чтобы ВОЗ играл более активную роль во внедрении стандартов для эффективного контроля передачи инфекции посредством медицинских вмешательств и продуктов крови. Об эффективности противоэпидемических мероприятий в отношении вирусных гепатитов будет трудно говорить до тех пор, пока ВОЗ ни организует скрининг и эпидемиологический надзор в каждом регионе.

Вирус гепатита С (HCV – hepatitis C virus) является одной из основных причин острого и хронического заболевания печени и в последние годы приобретает всё большее социально-экономическое значение. HCV распространен повсеместно [1, 2, 8, 10]. По

данным ВОЗ, в мире 130–170 млн. человек хронически инфицированы HCV, и ежегодно инфицируются 3–4 млн., а умирает более 350 тыс. человек. HCV распространяется путём прямого контакта с кровью инфицированного человека и передается, главным образом, парентеральным путём, а также вертикально (от матери к ребёнку). Одной из основных причин широкого распространения HCV в мире является использование небезопасных методов переливания крови и повторное использование игл и шприцев, которые не были в должной степени стерилизованы. Совместное использование игл, шприцев и другой атрибутики, используемой для употребления наркотиков, представляет собой не менее серьёзную опасность [6].

Природный резервуар вируса пока неизвестен. Экспериментально удаётся заразить HCV лишь шимпанзе с развитием острой и хронической инфекции.

Вирусный ГС – это около 20 % случаев острого гепатита, 70 % хронического гепатита, 40 % декомпенсированного цирроза печени, 60 % гепатоцеллюлярной карциномы. Известно, что 30 % случаев трансплантации печени связано с поражением печени HCV. Гепатит С часто осложняется и внепеченочными проявлениями инфекции, такими как мембранопролиферативный гломерулонефрит, болезнь Бехчета, преждевременное поседение, церебральный васкулит, криоглобулинемия, диабет, фибромиалгия, гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМ), плоский лишай, язва роговицы, множественная миелома, неходжкинская лимфома, периферическая невропатия, гепатическая порфирия, пруриг, синдром Рейно, HCV-индуцированный артрит, сиалоаденит, синдром Шенгрена, Спайдер Неви, системная красная волчанка (СКВ), заболевания щитовидной железы, васкулит, витилиго [6, 13]. Веским основанием для доказательства этиологической роли HCV для большинства упомянутых заболеваний, является обнаружение репликативных форм РНК HCV в поражённых органах и тканях человека.

Источником инфекции является больной человек. Пути передачи: а) трансфузионный – после переливания крови; б) от матери плоду и новорожденному; в) половой путь, г) при манипуляциях с повреждением целостности кожи и слизистых [11]. Ответом на появление в организме антигенов вируса является выработка специфических суммарных антител к HCV. Динамика появления антител к HCV в крови инфицированных лиц переменна, средний интервал от начала заболевания до появления антител составляет около 15 нед. (4–32 нед.), антитела против HCV у больных с хроническим гепатитом выявляются длительно, более 7 лет.

Морфология и физико-химические свойства. Возбудитель ГС – мелкий (30-38 нм в диаметре) РНК-содержащий, оболочечный вирус. Плавающая плотность вирионов HCV в градиенте плотности CsCl составляет 1.24 г/см³, в сахарозном градиенте – 1.08-1.11 г/см³; коэффициент седиментации равен 200 S. Обнаруживают и более легкую фракцию, равную 1.04–1.06 г/см³, которая, вероятно, является следствием ассоциации HCV с сывороточным бета-липопротеином. Более тяжёлая фракция (1.17 г/см³) в градиенте плотности сахарозы, скорее всего, связана с неинфекционными иммунными комплексами вируса и антител. Нуклеокапсид HCV имеет плавающую плотность в сахарозном градиенте, равную 1.25 г/см³ [20, 23].

Стабильность HCV. Инфекционная активность HCV инактивируется под воздействием растворителей липидов или детергентов, нагреванием до 60 °С в течение 10 ч, или при 100 °С в течение 2 мин в водном растворе. Формальдегид в разведении 1 : 2 000 инактивирует HCV в течение 72 ч при 37 °С [25, 38]. Вирус инактивируется β-пропиолактоном и ультрафиолетовым облучением. HCV относительно нестабилен при комнатной температуре в условиях длительного хранения, неустойчив к повторному замораживанию / оттаиванию.

Геном HCV представлен однонитевой линейной молекулой РНК положительной полярности протяженностью около 9 400 н.о., одной протяженной открытой рамкой считывания, кодирующей большой полипротеин, содержащий до 3 000 а.о., который подвергается расщеплению хозяйскими и вирусными протеазами на отдельные вирусные

белки [21, 22]. Геном HCV был клонирован в 1989 г., и результаты клонирования и полного секвенирования РНК HCV, а также физико-химические характеристики вируса позволили отнести HCV к семейству *Flaviviridae*, выделив его в отдельный род *Hepacivirus*, который занимает промежуточное положение между родами *Flavivirus* и *Pestivirus* этого семейства. Сравнительный анализ РНК HCV с геномами других вирусов, входящих в данное семейство, выявил сходство структуры РНК HCV с фрагментами геномов вирусов геморрагической лихорадки денге 2 (*Flaviviridae, Flavivirus*) и вируса крапчатости гвоздики (*Tombusviridae, Carmovirus*). Кроме того, зарегистрированы так называемые «локальные» гомологии (не более 16 н.о.) с вирусами классической чумы свиней и диареи КРС (*Flaviviridae, Pestivirus*) [31]. Наличие гомологии РНК HCV с геномами вирусов растений позволило предположить, что в эволюционном плане HCV занимает промежуточное положение между вирусами животных и растений.

Показано, что РНК HCV содержит высоко консервативную 5'-нетранслируемую область до 340 н.о., содержащую сайт, необходимый для трансляции генома HCV. Этот элемент РНК связывает рибосомальную субъединицу 40 S в отсутствие других факторов инициации трансляции. Нетранслируемый участок на 3'-конце терминируется полиуридиновыми рибонуклеотидами. За ними следует другая высококонсервативная последовательность, состоящая из 98–100 н.о., которая называется X-хвостом и играет важную роль в репликации вируса. Открытая рамка считывания кодирует полипротеин, состоящий из 3 010–3 033 а.о.. При трансляции этого полипротеина в эндоплазматическом ретикулуме инфицированной клетки образуется, по крайней мере, 10 зрелых белков. К структурным относятся белок нуклеокапсида и два гликопротеина оболочки E1 и E2, а также небольшой белок p7.

Белок внутренней части HCV (ядерный белок) является основным белком, который, связываясь с РНК вируса, образует нуклеокапсид. Кроме того, показано, что ядерный белок участвует в модуляции транскрипции и трансляции некоторых клеточных генов и оказывает онкогенное действие на культуру клеток и трансгенных мышей. Белки E1 и E2 входят в состав оболочки HCV. В E2 были выявлены два гипервариабельных участка HVR1 и HVR2. Под действием иммунной системы («иммунного пресса») участок HVR1 легко мутирует. Белок E2, возможно, играет роль в образовании нейтрализующих вирус антител, а мутации HVR1 детерминируют синтез антител к наиболее иммуногенным антигенным детерминантам [37]. Кроме того, показана также роль E2 в процессе связывания HCV с клеткой хозяина. Значение белка p7 не совсем понятно, но он, по-видимому, необходим для репликации HCV и действует подобно виропорину. Белок NS2 обладает протеазной активностью. Вместе с N-концом NS3 он образует NS2 / NS3-проTea3y, которая подвергается расщеплению на уровне связи NS2 / NS3. Белок NS3 обладает как протеазной, так и геликазной активностью. Белок NS4a, по существу, играет роль кофактора белка NS3. Кроме того, показано, что сериновая протеаза HCV NS3/4a блокирует действие регулирующего фактора 3 ИФН, ключевого клеточного противовирусного фактора. Функция белка NS4b неясна, а белок NS5a модулирует эффект ИФН на вирус. В белке NS5a идентифицирована область, определяющая чувствительность к ИФН. Мутации в этой области существенно снижают эффективность к лечению ИФН. Показано так же, что белок NS5a является мощным ингибитором индуцируемой ИФН протеинкиназы PKR, которая относится к противовирусным факторам. Белок NS5a обладает РНК-зависимой РНК-полимеразной активностью и играет существенную роль в синтезе РНК и репликации. Механизм инициации синтеза РНК вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой окончательно не изучен.

Генотипы и субтипы HCV, их распространение. Для РНК HCV, циркулирующего в различных регионах мира, и персистирующего в организме больного, выявлена основная особенность – высокая гетерогенность определенных участков генома [7, 10, 23, 30, 32, 37, 40]. Выделяют два гипервариабельных участка РНК HCV. Первый из них (HVR1) протяженностью в 90 н.о., расположен на 5'-конце гена E2. Второй гипервариабельный

участок (HVR2) протяженностью 21 н.о. примыкает к 3'-концу. Наличие гипервариабельных участков генома HCV обеспечило появление различных генотипов HCV. Анализ РНК многочисленных вариантов HCV, циркулирующих в различных регионах мира, выявил существование основных групп вируса, обозначаемых типами или генотипами (с гомологией нуклеотидных последовательностей между ними менее 72 %). Идентифицировано, как минимум, шесть основных генотипов HCV. Сравнительный анализ гомологии РНК HCV различных генотипов позволил установить наличие более 100 субтипов (уровень гомологии между различными субтипами внутри генотипа – 72–86 %). Кроме того, наличие различий в последовательностях в 1–14 % определяет существование множественных вариантов вируса или его квазивидов, появляющихся в результате длительной персистенции вируса в организме человека. У инфицированного HCV пациента одновременно могут находиться многие миллионы квазивидов HCV. Их существование объясняет появление постоянно меняющихся антигенных структур вируса, циркулирующих в организме человека и обеспечивающих феномен «ускользание» HCV от нейтрализующего действия антител, индуцируемых HCV в организме человека. Происходит постоянное соревнование между образованием новых антигенных вариантов и выработкой вируснейтрализующих антител. Причем победителем постоянно оказывается вирус, а не иммунная система. Быстрое изменение генома HCV лежит в основе длительного, часто пожизненного, носительства HCV. Филогенетический анализ РНК HCV позволил предположить, что разделение HCV на генотипы могло произойти от 500 до 2 000 лет назад, а разделение генотипа 1 на субтипы 1a и 1b – более 300 лет назад [32]. Высокая изменчивость РНК HCV связана с появлением точечных мутаций, вставок и делеций, возникающих при репликации вируса.

Другой механизм, обеспечивающий изменчивость генома вирусов, – рекомбинация, характерная для многих РНК-содержащих вирусов: вируса гриппа, ВИЧ, полиовируса и вируса денге. Изучение рекомбинации между разными генотипами HCV находится на начальном этапе [27].

Циркуляция HCV обнаружена повсеместно. По данным ВОЗ, страны, где выявлен наиболее высокий процент хронически инфицированных больных, являются Египет (22 %), Пакистан (4.8 %) и Китай (3.2 %). Основной путь передачи вируса в этих странах связан с использованием незащищенных способов парентеральных инъекций и контаминированного оборудования.

Анализ распространения HCV и его генотипов и субтипов HCV в мире показал, что наибольшее распространение имеют субтипы 1a, 1b, 2a, 2b и 3a [37]. Они доминируют в Европе, Северной Америке, Азии и Океании. В европейских странах субтип 1b составляет 50–91 % (Германия – 59 %, Бельгия – 65 %, Венгрия – 84 %, Италия (Сицилия) – 91 %), а субтип 1a — не более 40 % (Германия – 32 %, Дания – 40 %, Франция – 35 %). В США превалирует субтип 1a, который получил даже обозначение «американский генотип». Частота выявления субтипов 1a и 1b в США в среднем составляет 37 % и 30 %, соответственно. Все остальные генотипированные варианты HCV представлены не более чем в 10 %. В Японии, Тайване, Китае (особенно в южных провинциях), Сингапуре, Индонезии и Южной Корее наиболее часто выявляют субтип 1b, «японский генотип» (за исключением Филиппин, где частота субтипа 1b достигает 54.5 %). Субтипы 2a и 2b имеют более ограниченное распространение в мире, чем субтипы 1a и 1b и меньший удельный вес среди генотипов, представленных на данной территории. Наиболее часто генотип 2 представлен в странах Азии. Генотип 3 наиболее распространен в Таиланде (до 50 %), северной Европе (в Великобритании – до 25 %) и Австралии. В странах Средней Азии, северной и центральной Африке широко представлен генотип 4. Так, среди доноров носителей HCV в Египте генотип 4 встречается в 30–40 % случаев выявления HCV. Генотип 5 часто выявляется среди больных хроническим гепатитом в ЮАР, а генотип 6 был идентифицирован в странах Юго-Восточной Азии.

В РФ официальная регистрация ГС была начата в 1994 г. (после разработки в 1989 г. за рубежом и в 1991 г. в России ИФА тест-систем для индикации анти-HCV антител). Однако

ещё в 1977 г. Е.А. Пакторис на основании анализа групповых заболеваний у лиц, находившихся в одном стационаре и одновременно получавших там внутривенные инъекции, обосновал возможность существования «сывороточного гепатита “не В”» (у всех заболевших острым гепатитом отсутствовали анти-HBs антитела).

В последние годы имеет место дальнейшее снижение заболеваний острым ГС (ОГС) (до 1.7 на 100 тыс. населения в 2011 г.) при росте хронических форм ГС (ХГС) [11].

Подавляющее число летальных исходов от ГС в России приходится на больных хроническими формами гепатита В (ГВ) и ГС. В 2010 г. умерло 25 больных острым ГВ (ОГВ) и 2 ОГС, в то время, как от хронических форм ГВ – 84, а ХГС – 70. Следует отметить, что у 71 умершего, этиология хронического вирусного гепатита не была расшифрована [6].

По данным Д.К. Львова и соавт., в России доминирует субтип 1b [7, 8, 10, 12, 30]. Доля субтипа 1b составляет в различных регионах Северной Евразии 64.7 %, на Дальнем Востоке – 80–83 %, а в Центрально-Черноземном и Волго-Вятском регионах России – 50–56 %. Субтип 1a наиболее часто обнаруживали в Центральном, Северо-западном, Волго-Вятском регионах – 11.2–21.9 %, в то время, как на территории Восточной Сибири, Центрально-Черноземного района и Урала его удаётся выявить крайне редко (до 5 %). Субтипы 2a и 2b среди лиц с наличием HCV в России также относят к редко выявляемым (2a и 2b – 4.7–0.5 %). В последнее время доля субтипа 3a в циркуляции HCV в некоторых регионах Российской Федерации существенно возрастает и достигает 40 % (многолетние данные НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского по г. Москве и Московской обл.).

Репликация HCV. Информация о репликации HCV до сих пор крайне ограничена и в большинстве случаев носит противоречивый характер. Это положение можно объяснить отсутствием, до недавнего времени, доступной экспериментальной модели HCV. Однако исследования, проведенные в России [3, 4, 5, 6] и в других странах [26, 29], позволили разработать экспериментальные модели HCV *in vitro* и *in vivo*. Репродукция HCV в первичных культурах клеток головного мозга новорожденных белых мышей приводила к селекции инфекционных цитопатогенных вариантов HCV, характеризующихся широким спектром чувствительных для репликации вируса культур клеток. Это позволило изолировать высокопродуктивные варианты HCV. Другая модель инфекции HCV *in vivo*, созданная в Канаде, основана на имплантации линии клеток гепатомы человека Nuh-7 в печень бестимусных мышей. После заражения клеток Nuh-7 HCV удавалось найти последовательности РНК HCV в клетках печени и сыворотках крови мышей.

Особенности клинического течения ГС. Течение заболевания варьирует от средней тяжести, продолжающегося в течение нескольких недель, до тяжёлой формы хронической инфекции, продолжающейся в течение всей жизни, и приводящей к циррозу и раку печени [6, 9, 13, 15, 16, 17, 20, 33, 36]. Инкубационный период для HCV составляет от 2 нед. до 6 мес.. После первичного инфицирования у примерно 80 % людей инфекция протекает бессимптомно. Острая фаза ГС традиционно ограничивают 6-месячным сроком. Он может протекать как незаметно для человека (эту стадию врачи называют субклинической или инанпаратной), так и в виде явных внешних проявлений. При острой инфекции у больных отмечают повышение температуры, слабость, снижение аппетита, насморк, тошноту, боли в животе, тёмную мочу, лицо серого цвета, суставные боли, желтуху (желтизна кожи и склер глаз). Приблизительно у 75–80 % вновь инфицированных людей формируется хроническая инфекция, а у 60–70 % хронически инфицированных людей развивается хронический гепатит, который у 5–20 % заканчивается циррозом печени, и 1-5 % хронически инфицированных HCV людей погибают от цирроза или рака печени. Причиной 25 % всех случаев рака печени людей является ГС.

Большинство больных ХГС переносит в скрытой форме острую фазу. Установить диагноз в таком случае представляется возможным только при массовом обследовании лиц, принадлежащих к группам высокого риска заражения.

В небольшом проценте происходит выздоровление больных ГС. Получены данные о том, что предикторами реконвалесценции больных ОГС в течение 1-го мес. от начала заболевания являются: 1) отсутствие или низкая активность (оптическая плотность в ИФА < 0.1) антител к белку NS5A; 2) низкая концентрация нуклеокапсидного белка в сыворотке крови (< 40 пг/мл); 3) низкая концентрация растворимой формы дифференцировочного антигена sCD38 в сыворотке крови (< 20 МЕ/мл). Отсутствие РНК HCV в сыворотке крови и нормализация АЛТ через 3 мес. от начала заболевания также свидетельствуют о выздоровлении больных ГС [14].

У основной массы больных острая фаза ГС сменяется латентной, с многолетней персистенцией вируса в организме. Скрытая фаза может продолжаться многие годы, до 10-20 лет. В течение этого периода большинство инфицированных считают себя здоровыми, оставаясь потенциальными источниками инфекции. Единственной жалобой может быть незначительная тяжесть в правом подреберье, которая проявляется при нарушении режима питания и физических нагрузках. У больных выявляют незначительное увеличение и уплотнение печени и селезенки. Анализы крови показывают лишь небольшое повышение уровня АЛТ, и периодически выявляется РНК HCV.

Реактивация ГС, как правило, возникает в среднем через 14 лет, цирроз печени – через 18 лет, гепатоцеллюлярная карцинома – 23–28 лет. В этот период заболевания особенно характерны такие симптомы, как быстрая утомляемость, вялость, недомогание, прогрессирующее снижение трудоспособности, бессонница в сочетании с сонливостью в дневные часы; чувство тяжести в правом подреберье, ухудшение аппетита. Отмечаются тенденция к похуданию, небольшой подъём температуры без признаков желтухи. При обследовании отмечают увеличение и уплотнение печени, в более поздние сроки – увеличение селезенки. У 20–40 % больных ХГС в фазу реактивации происходят необратимые изменения в печени, её уплотнение вследствие образования новой соединительной ткани – наблюдается переход в цирроз печени. В течение многих лет цирроз может быть незамеченным, Даже при 15-тилетнем наблюдении его признаки устанавливаются не более чем у 10 % больных. Финалом фазы реактивации ХГС, особенно протекающего с циррозом печени, может являться развитие рака печени – гепатоцеллюлярная карцинома. Установлены маркёры (предикторы) становления хронической инфекции HCV. В частности, обнаружена прямая зависимость между активностью антител к белку NS5A HCV и формированием персистентной (хронической) инфекции.

Возможность перинатального пути передачи HCV-инфекции. Известно, что HCV передается парентеральным путем и, в первую очередь, шприцевым в группах риска (наркоманы, больные гемофилией, больные отделений гемодиализа и другие категории лиц, контактирующих с кровью человека или её продуктами). По данным ВОЗ, наиболее распространенным способом является передача HCV путём заражения инфицированной кровью [11]. Это может иметь место:

- при переливании контаминированной крови, её продуктов, или при трансплантации органов;
- при процедурах, связанных с инъекциями с помощью контаминированных шприцев, игл и игловых травм в медицинской практике.
- при использовании внутривенных наркотических средств;
- при передаче HCV ребёнку инфицированной матерью.

HCV может передаваться половым путём или при совместном использовании контаминированных кровью личных вещей, однако это менее распространённые пути инфицирования. HCV не распространяется через грудное вскармливание, пищу или воду или посредством случайных контактов таких как объятия, поцелуи или совместный приём пищи или питья.

Показана возможность перинатальной передачи HCV [Чешик С.Г. и соавт.]. Факторами риска внутриутробной передачи HCV являлись наличие инфекции, вызванной HCV, у обоих родителей и употребление матерью психотропных препаратов.

Диагностика ГС. Острую форму инфекции HCV часто не диагностируют, поскольку у большинства инфицированных людей не обнаруживают симптомов инфекции. Общепринятые методы определения антител не могут дифференцировать острую или хроническую стадию инфекции. Наличие антител против HCV свидетельствуют о том, что человек или инфицирован вирусом, или был инфицирован ранее. Метод рекомбинантного иммуноблоттинга (RIBA – Recombinant immunoblot assay) и тестирование РНК HCV используют для подтверждения диагноза. Диагностика хронической инфекции основана на выявлении антител к HCV в сыворотке крови людей в течение более 6 мес.. Так же, как и при острой инфекции, диагноз «хроническая инфекция» подтверждается дополнительными тестами. Специальные тесты часто используются для обнаружения цирроза и рака печени. Ранний диагноз может предотвратить проблемы со здоровьем, которые могут быть результатом инфекции и предотвратить передачу инфекции среди членов семьи и при других тесных контактах. Некоторые страны рекомендуют скрининг групп населения, подверженных риску заражения HCV, в том числе:

- людей, которым переливали кровь или её продукты, провели трансплантацию органов до проведения скрининга;
- настоящих или бывших наркоманов (включая лиц, принявших наркотики однажды, много лет назад)
- лиц, находящихся на длительном гемодиализе;
- работников лечебно-профилактических учреждений;
- лиц, заражённых ВИЧ;
- лиц с заболеванием печени, или с плохими результатами тестов, отражающих функцию печени;
- новорожденных от инфицированных матерей.

Исследования, проведенные в области диагностики ГС, показали, что с наибольшей частотой (до 95 %) РНК HCV выявляется методом ОТ-ПЦР в клетках крови человека (лимфоцитах, мононуклеарах), чем в сыворотке крови людей (до 76 %). Эти данные позволяют рекомендовать использовать обнаружение РНК HCV в клетках крови человека для диагностики инфекции [17, 34].

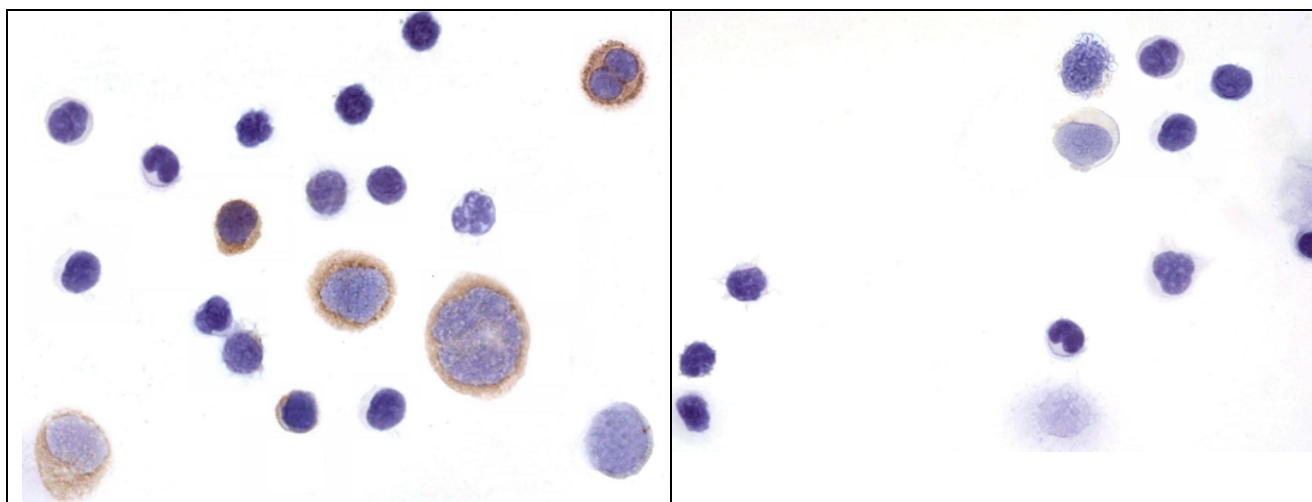


Рисунок 1. Выявление HCV в мононуклеарах периферической крови с помощью моноклональных антител против белка NS5a: слева – коричневая окраска в области формирования комплексов антиген (HCV)–антитело; справа – контроль (моноклональные антитела против ВИЧ-1).

В настоящее время, разработан также метод обнаружение антигенно-активных белков HCV в мононуклеарных клетках периферической крови больных ГС с помощью моноклональных антител (рис. 1). И было установлено, что мононуклеары периферической крови могут являться не только резервуаром для HCV, но также местом активной репликации вируса, что может вызывать иммунные расстройства и усиливать тяжесть течения ГС.

Лечение ГС по-прежнему основано на использовании препаратов интерферона или интерферона в комбинации с вирозолом (рибавирином). Оно характеризуется невысокой эффективностью (не все инфекции, вызванные разными генотипами HCV, в одинаковой степени поддаются лечению интерфероном). Кроме того, лечение препаратами ИФН отличается высокой стоимостью и сопряжено побочными явлениями, связанными с токсическими свойствами препарата [33, 36, 39, 41].

Для оценки эффективности проводимой терапии ХГС были установлены серологические показатели и индикаторы разного результата комбинированной противовирусной терапии при ХГС; в частности, показано, что: 1) если в крови людей обнаруживаются IgM к HCV в титре 1 : 32 и выше, то это свидетельство негативного результата противовирусной терапии; 2) значительное снижение содержания анти-NS3 IgG, анти-NS4ab IgG и анти-HCV IgM к 1-му и 3-му мес. терапии – индикатор устойчивого вирусологического ответа.

Изучается влияние генетического полиморфизма HCV и некоторых генов инфицированных людей на эффективность противовирусной терапии. Среди проанализированных мутаций в генах интерлейкинов (ИЛ) обнаружено достоверное преобладание аллельного варианта CC в гене ИЛ-6 (- 174 C/T) и тенденция к низкой встречаемости варианта TT в гене eNO-синтетазы (+ 894 G/T) у пациентов с устойчивым вирусным ответом. В последнем случае впервые отмечается вовлеченность ишемических нарушений в формирование ответа на терапию. Немутантный генотип HH гена гемохроматоза (+63 H/D) достоверно чаще обнаруживался в группе больных с легким течением ХГС и в группе лиц, характеризующейся устойчивым вирусным ответом на терапию. В российской популяции такая ассоциация полиморфизмов генов ИЛ-6 и HFE с достижением устойчивого вирусного ответа при терапии больных показана впервые. На основании полученных данных можно предположить, что вероятность достижения устойчивого вирусного ответа минимальна у пациентов, инфицированных вирусом субтипа 1b, и имеющих аллельные варианты TT гена ИЛ-6 и вариант DD гена HFE.

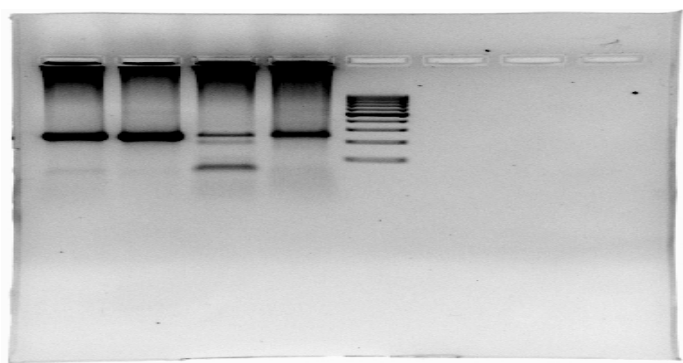


Рисунок 2. Данные ОТ-ПЦР. Обнаружение РНК HCV в культурах клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ, инфицированных HCV (4-й день после заражения клеток). Последующее секвенирование амплифицированных фрагментов генома позволяет окончательно идентифицировать РНК HCV.

Продолжаются исследования по моделированию инфекции, вызванной HCV в культурах клеток различного происхождения с целью создания экспериментальных моделей инфекции, вызванной HCV *in vitro*, для скрининга противовирусных соединений [4]. Из сыворотки крови больного гепатоклеточной карциномой, содержащей 10^6 МЕ/мл РНК HCV субтипа 1b и антитела к IgG в разведении 1 : 1 000, выделен высокопродуктивный для культур клеток вариант HCV. Инфекционный титр вируса для клеточных культур СПЭВ, Vero-E6 достигал $7.5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. Таким образом,

была пополнена уникальная коллекция цитопатогенных вариантов HCV, пригодных для разработки на их основе диагностических, лечебных и профилактических препаратов. Разработаны условия, позволяющие в значительной мере повысить чувствительность и

специфичность ОТ-ПЦР для выявления РНК HCV в культурах клеток различного происхождения (рис. 2). Полученные данные позволили стабильно определять РНК HCV, персистирующего в культурах клеток.

Данные о широком спектре клеточных культур, чувствительных к репликации выделенных штаммов HCV, а также собранная коллекция цитопатогенных штаммов HCV позволяют использовать их для скрининга противовирусных препаратов, так как проблема лечения HCV сохраняет высокую актуальность. В результате проведенных доклинических исследований по изучению противовирусной активности соединений на модели HCV инфекции *in vitro* получены данные, свидетельствующие о перспективности дальнейшего изучения противовирусной активности многих препаратов, в том числе, экстракта коры берёзы – бетулина и его производных, а также экстрактов берёзового гриба (чаги) *Inonotus obliquus* – препарата Стимфорте® [5, 6, 19]. Получены данные о высоком противовирусном эффекте данных препаратов в отношении инфекции, вызванной HCV в культурах клеток.

13 мая 2011 г. Федеральная служба по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (USFDA – USA Food and Drug Federal Administration) одобрила применение нового ингибитора протеазы боцепревира (МНН – boceprevir). Препарат разрабатывался компанией Schering-Plough Corp., и далее, после слияния в 2009 г., исследования продолжила компания Merck & Co., Inc. [35]. 23 мая 2011 г. USFDA одобрила применение нового ингибитора протеазы HCV (МНН – telaprevir). Препарат разрабатывался компанией Janssen в сотрудничестве с Vertex и Mitsubishi Tanabe Pharma [24]. По данным клинических исследований, новые ингибиторы протеазы HCV являются многообещающими препаратами. В ходе III фазы клинических испытаний пациенты в исследуемой группе получали телапревир и пегинтерферон альфа-2b/рибавирин течение 12 нед., затем телапревир отменялся и терапия продолжалась пегинтерфероном альфа-2b/рибавирином, у части пациентов ещё в течении 12 нед., и у другой части в течении 36 нед. (12 + 36 = 48 нед. – стандартная длительность терапии HCV пегинтерфероном альфа-2b и рибавирином). В группе телапревира излечение наступало у 60 % в срок 24 нед., т.е. вдвое быстрее, чем при стандартной терапии.

Краткие результаты эффективности телапревира, полученные в III фазе клинических исследований: (устойчивый вирусологический ответ, стандартная терапия (пегинтерферон альфа-2b/рибавирин) vs терапия в сочетании с телапревиром):

- у лиц, впервые получающие противовирусную терапию: 46 % vs 79 %;
- у лиц, ранее получавшие терапию:
 - в группе с рецидивом заболевания 22 % vs 86 %;
 - в группе частичного вирусологического ответа 15 % vs 59 %;
 - в группе не реагировавшей на предыдущее лечение 5 % vs 32 %.

Показано, что телапревир не следует сочетать с рядом других лекарственных средств, во избежание увеличения риска побочных эффектов и/или падения концентрации препарата и возникновения риска вирусологической неудачи: аторвастатин, ловастатин, симвастатин, пимозид, рифампицин, альфузион, силденафил, тадалафил, триазолам, препараты зверобоя и препараты спорыньи.

Показано, что препараты увеличивают риск развития ряда побочных эффектов, таких, как поражение кожи, сыпь, нейтропения, анемия, нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта.

Перспектива разработки вакцины против ГС. На сегодняшний день, вакцины против ГС нет [18]. В то же время, согласно рекомендациям ВОЗ, можно уменьшить риск заражения, если:

- стараться избегать использования ненужных и небезопасных инъекций;
- стараться избегать применения в лечебных целях продуктов крови, подозрительных на заражение HCV;
- производить сбор и обезвреживание небезопасных колюще-режущих отходов;

- предотвращать незаконное использование наркотиков и совместное использование инъекционного оборудования;
- избегать незащищенного секса с инфицированными ГС;
- предотвращать совместное использование острых предметов, которые могут быть загрязнены инфицированной кровью; татуировки, пирсинг и акупунктуры и др..

Со времени открытия HCV начались интенсивные исследования по разработке вакцины против ГС. В связи с тем, что инфекционные штаммы HCV не были изолированы из материалов от больных, исследования проводятся в направлении разработки генно-инженерных, рекомбинантных, субъединичных, пептидных и ДНК-вакцин.

Исследования, проводимые в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского, позволили получить данные о том, что в сыворотке крови инфицированных HCV людей на стадии реконвалесценции, содержатся антитела, нейтрализующие инфекционную активность изолированных штаммов HCV [3, 6]. Нейтрализация инфекционной активности регистрировали как по снижению цитопатогенной активности HCV, так и по исчезновению РНК HCV в пробах среды зараженных культур клеток, в которых вирус перед заражением обрабатывали сывороткой крови людей, содержащих IgG против HCV.

Коллекция цитопатогенных вариантов HCV позволила нам впервые исследовать сыворотки крови HCV инфицированных людей на наличие вируснейтрализующих антител в реакции биологической нейтрализации.

Изучение IgG, защищающих обезьян от инфекции, вызванной HCV (Файнстон, США), свидетельствовали о том, что защита обезьян от инфекции, скорее всего, происходит за счет действия вируснейтрализующих антител, содержащихся в данной сыворотке, так как IgG оказались способными более чем в 1 000 раз снижать инфекционную активность изолированных цитопатогенных вариантов HCV в разных клеточных культурах (табл. 1).

Таблица 1. Способность IgG, содержащих анти-HCV антитела, защищать обезьян от инфекции HCV.

HCV из клеточной культуры	Ig TCD₅₀/мл до нейтрализации	Ig TCD₅₀/мл после нейтрализации	Индекс нейтрализации
LFB-HUM	8.4	4.6	3.8
T 5B-HUM	9.0	5.5	3.5

Изоляция цитопатогенных штаммов HCV, обладающих высокими продуктивными и антигенными свойствами, широкий спектр клеточных культур, чувствительных к репликации HCV, способность цитопатогенных штаммов индуцировать вируснейтрализующие (протективные) антитела в организме лабораторных животных – всё это открывает перспективу для разработки эффективной культуральной вакцины против ГС.

Таким образом, полученные в результате исследований в последние годы данные открывают перспективу для скрининга новых противовирусных соединений, активных в отношении инфекции, вызванной HCV, для совершенствования методов диагностики ГС, для разработки вакцины в целях специфической профилактики этой инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вирусные гепатиты в Российской Федерации: аналитический обзор / Ред.: А.Б. Жебруна. – СПб., 2005. – Вып. 5. – 158 с.
2. Волčkова Е.В. Острые вирусные гепатиты // В кн.: Практическая гепатология / Ред.: Н.А. Мухин. – М., 2004. – С. 28–33.
3. Дерябин П.Г., Исаева Е.И., Гренкова Е.П. и др. Цитопатогенные варианты вируса гепатита С (HCV), пригодные для разработки вакцины // Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2001. – Т. 1. – С. 28–30.
4. Дерябин П.Г., Львов Д.К. Высокопродуктивный вариант вируса гепатита С. Выделение, характеристика, идентификация // Доклады Академии наук РФ. – 1998. – Т. 358. – № 5. – С. 688–691.
5. Дерябин П.Г., Исаева Е.И., Мальдов Д.Г. и др. Действие препарата стимфорте на инфекцию, вызванную вирусом гепатита С, генотип 1b // Вопросы вирусологии. – 2009. – № 2. – С. 17–20.
6. Дерябин П.Г., Шахгильдян И.В. Гепатит С: фундаментальные и прикладные проблемы // В сб.: Изучение эволюции вирусов в рамках проблем биобезопасности и социально значимых инфекций / Ред.: академик РАМН Д.К. Львов, член-корреспондент РАМН Л.В. Урываев. – М., 2011. – С. 89–98.
7. Львов Д.К., Дерябин П.Г. Географическое распространение вируса гепатита С и его генотипов // Вопросы вирусологии. – 1997. – № 5. – С. 196–199.
8. Львов Д.К. Вирусные гепатиты от А до G и далее // ЖМЭИ. – 1997. – № 1. – С. 70–77.
9. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. – 384 с.
10. Львов Д.К., Миширо С., Селиванов М.А. и др. Распространение генотипов вируса гепатита С, циркулирующих на территории Северо-Западной и Центральной частей России // Вопросы вирусологии. – 1995. – № 6. – С. 251–253.
11. Ершова О.Н., Шахгильдян И.В., Коленова Т.В. и др. Естественные пути передачи вируса гепатита С – современный взгляд на проблему // Детские инфекции. – 2006. – № 1. – С. 16–18.
12. Львов Д.К. Вирусный гепатит С – «ласковый убийца» // Рос. Гастроэнтерол. Журн. – 1995. – № 1. – С. 4–6.
13. Мальков П.Г., Данилова Н.В., Москвина Л.В. Внепеченочные осложнения хронического гепатита С // Успехи современного естествознания. – № 11. – С. 22–27.
14. Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Макашова В.В. и др. Поиск генетических факторов вируса гепатита С и пациентов с хроническим гепатитом С, ассоциированных с формированием устойчивого вирусологического ответа на противовирусную терапию // В мире вирусных гепатитов. – 2011. – № 1. – С. 26–35.
15. Соринсон С.Н. Особенности патогенеза и течения гепатита С // Вирусные гепатиты. Информационный бюллетень. – 1998. – № 1. – С. 3–8.
16. Учайкин В.Ф., Святский Б.А. Гепатит С // В кн.: Инфекционные болезни у детей. – М.: ГЭОТАР-Медицина, 1998. – С. 140–142.
17. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. – 384 с.
18. Шахгильдян И.В., Онищенко Г.Г., Хухлович П.А. и др. Итоги изучения и нерешенные вопросы эпидемиологии и профилактики парентеральных вирусных гепатитов в России // Журнал микробиол. – 1994. – № 5. – С. 26–32/
19. Шибнев В.А., Мишин Д.В., Гараев Т.М. и др. Противовирусная активность экстрактов гриба *Inonotus obliquus* в отношении инфекции, вызванной вирусом гепатита С, в культурах клеток // Бюлл. эксп. биологии и медицины. – 2011. – Т. 151. – № 5. – С. 549–551.

20. *Bendinelli M., Vatteroni M.L., Maggi F., Pistello M.* Hepatitis C virus: biology, pathogenesis, epidemiology, clinical description and diagnosis // In: *Viral hepatitis: diagnosis, therapy, and prevention* / Ed.: S. Specter. – Humana Press, 1999. – P. 65–127.
21. *Castro F.J., Sauleda S., Esteban T.I., et al.* Evaluation of hepatitis C virus RNA RT PCR qualitative and quantitative second generation assays // *J. Virol. Methods.* – 2001. – V. 91. – N 1. – P. 54–58.
22. *Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J., et al.* Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome // *Science.* – 1989. – V. 21. – N 244 (4902). – P. 359–362.
23. *Cuyppers H.T., Winkel I.N., Van der Poel C.L.* Analysis of genomic variability of hepatitis C virus // *J. Hepatol.* – 1991. – V. 13. – N 4. – P. 15–19.
24. FDA Approves Incivek (Telaprevir) for people with hepatitis C // *Vertex Press Releases.* – 2011. – N 23.
25. *Fujita N., Kaito M., Ishida S., et al.* Paraformaldehyde protects of hepatitis C virus particles during ultracentrifugation // *J. Med. Virol.* – 2001. – V. 63. – N 2. – P. 108–116.
26. *Guévin C., Lamarre A., Labonté P.* Novel HCV replication mouse model using human hepatocellular carcinoma xenografts // *Antiviral Res.* – 2009. – V. 84. – N 1. – P. 14–22.
27. *Kalinina O., Norder H., Mukomolov S.W., Magnius L.O.* A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St.-Peterburg // *J. Virol.* – 2002. – V. 76. – N 8. – P. 4034–4043.
28. *Kao J.H., Liu C.J., Chen P., et al.* Low incidence of hepatitis C virus transmission between spouses: a prospective study // *J. Gastroenterol.* – 2000. – V. 15. – P. 391–395.
29. *Labonté P., Morin N., Bowlin T., Mounir S.* Basal replication of hepatitis C virus in nude mice harboring human tumor // *J. Med. Virol.* – 2002. – V. 66. – N 3. – P. 312–319.
30. *Lvov D.K., Samokhvalov E.I., Tsuda F., et al.* Prevalence of hepatitis C virus and distribution of its genotypes in Northern Eurasia // *Arch. Virol.* – 1996. – V. 141. – P. 1613–1622.
31. *Miller R.H., Purcell R.H.* Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as members of two plant virus supergroups (non-A, non-B hepatitis/potyvirus/carmovirus/picornavirus/alphavirus) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – V. 87. – P. 2057–2061.
32. *Mizokami M., Ina Y., Ohba T., et al.* Molecular evolutionary genotypes of hepatitis C virus and their divergence times // In: *Proceedings of 8-th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases.* – Tokyo, 1993. – P. 75.
33. *Mondelli M.U., Silini E.* Clinical significance of hepatitis C virus genotyped // *J. Hepatol.* – 1999. – V. 31 (Suppl. 1). – P. 65–70.
34. *Pawlotsky J.M.* Diagnostic tests for hepatitis C // *J. Hepatol.* – 1999. – V. 31 (Suppl. 1). – P. 71–79.
35. *Poordad F., McCone J. Jr., Bacon B.R., et al.* Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – N 364 (13). – P. 1195–206.
36. *Sherlock S., Duley J.* Заболевания печени и желчных путей. Практическое руководство // М.: ГЭОТАР-Медицина, 1999. – 864 с.
37. *Simmonds P.* Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus: 15 years on // *J. Gen. Virol.* – 2004. – V. 85. – Pt. 1 – P. 3173–3188.
38. *Song H., Li J., Shi Sh., et al.* Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture // *Virol. J.* – 2010. – V. 7. – N 40. – P. 1–9.
39. *Thevenot T., Regimbeau C., Ratziu V., et al.* Meta-analysis of interferon randomized trials in the treatment of viral hepatitis C in naïve patients: 1999 update // *J. Viral Hepatitis.* – 2001. – V. 8. – P. 48–62.
40. *Viazov S., Kuzin S., Paladi N., et al.* Hepatitis C virus genotypes in different regions of the former Soviet Union (Russia, Belarus, Moldova and Uzbekistan) // *J. Med. Virol.* – 1997. – V. 53. – P. 36–40.
32. *Zhang M., Sun X.D., Mark S.D., et al.* Hepatitis C virus infection. Linxian, China // *Emerg. Infect. Dis.* – 2005. – V. 11. – N 1. – P. 17021.